

УДК 628.353

Биоаугментация нитрифицирующих микроорганизмов для повышения эффективности окисления соединений азота в процессе биофильтрации сточных вод

© 2020 Т. В. ВДОВИНА^{1,*}, А. С. СИРОТКИН¹, Й. В. КОБЕЛЕВА¹, Е. С. ГОРШКОВА¹¹ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», Казань, 420015

*e-mail: tvkirlina@gmail.com

Поступила в редакцию 25.10.2019 г.

После доработки 03.02.2020 г.

Принята к публикации 06.03.2020 г.

Оценена эффективность биоаугментации нитрифицирующих бактерий в микробиоценоз биопленки в процессе 30-суточной непрерывной биофильтрации модельного раствора коммунально-бытовых сточных вод. Лабораторная установка состояла из двух параллельно работающих биофильтров, в один из которых после пускового периода осуществляли последовательно интродукцию культур аммонийокисляющих бактерий и нитритокисляющих бактерий р. *Nitrobacter*. Определено, что биоаугментация аммонийокисляющих бактерий в микробиоценоз биопленки приводит к увеличению эффективности удаления аммонийного азота в среднем в 1,6 раза относительно контрольного биофильтра, последующая биоаугментация нитритокисляющих бактерий обуславливает увеличение количества нитратов в очищенной воде в среднем в 2 раза. В результате биоаугментации нитрифицирующих бактерий в микробиоценоз биопленки достигнута интенсификация процесса нитрификации. Количественная и качественная идентификация микроорганизмов методом флуоресцентной *in situ* гибридизации показала увеличение количества нитрифицирующих микроорганизмов в составе биопленки опытного биофильтра, что подтверждает эффективность интродукции микроорганизмов и коррелирует с результатами биотрансформации соединений азота.

Ключевые слова: нитрифицирующие микроорганизмы, биофильтрация сточных вод, биопленки, биоаугментация, флуоресцентная *in situ* гибридизация.

doi: 10.21519/0234-2758-2020-36-2-99-107

Биофильтрация сточных вод является одним из распространенных и эффективных методов очистки стоков, сочетающим процессы механического и физико-химического фильтрования, а также биологического окисления загрязняющих примесей с участием микроорганизмов биопленки, формирующейся на поверхности загрузки материала. Обладая такими преимуществами, как низкие эксплуатационные затраты, простота работы, отсутствие необходимости рециркуляции и разделения биомассы, относительно небольшое количество избыточной биомассы, возможность создания оптимальных условий для развития большого разнообразия микроорганизмов, малый объем реактора, и как следствие, небольшая пло-

щадь для очистной установки, биофильтры находят широкое применение в качестве компактных и эффективных систем водоочистки [1].

Важную роль в практике очистки сточных вод играет процесс нитрификации, так как является конечной стадией окислительных процессов, происходящих в системах биологической очистки. Нитрификация лимитирует процесс очистки сточных вод, поскольку протекает медленно вследствие физиологических особенностей нитрифицирующих микроорганизмов, прежде всего, невысоких ростовых показателей и их требовательности к условиям среды [2].

Комплексное удаление органических веществ и аммонийного азота может сопровождаться

Список сокращений: АОМ – аммонийокисляющие микроорганизмы; МР СВ – модельный раствор сточных вод; НОМ – нитритокисляющие микроорганизмы; ХПК – химическое потребление кислорода

ингибированием процесса нитрификации с подавлением развития автотрофных нитрифицирующих бактерий гетеротрофными микроорганизмами. При этом нахождение медленно растущих и чувствительных к негативным воздействиям окружающей среды нитрифицирующих бактерий в составе микробных биопленок предоставляет им ряд преимуществ перед суспендированными клетками и обеспечивает их относительно высокую концентрацию в системе водоочистки [1].

В настоящее время актуальным направлением экспериментальных исследований в области биологической очистки сточных вод является формирование высокоэффективного микробиоценоза очистных сооружений, в том числе путем применения технологии биоаугментации [3-5]. Технология заключается во внесении культур микроорганизмов, специализированных для удаления определенных загрязняющих веществ, в основной процесс биологической очистки. Биоаугментация может быть осуществлена в процессе привнесения извне желаемой культуры микроорганизмов или путем наращивания необходимых микроорганизмов внутри технологического процесса [3-5]. Опыт биоаугментации нитрифицирующего микробиоценоза реализован, главным образом, в области очистки сточных вод в системах с активным илом [6-12].

Цель данной работы заключалась в оценке эффективности биоаугментации нитрифицирующих бактерий в микробиоценозе биопленки биофильтрационной системы для повышения качества очистки сточных вод.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Экспериментальные исследования заключались в проведении 30-суточного процесса непрерывной биофильтрации модельного раствора коммунально-бытовых сточных вод. На 8 сут эксперимента в микробиоценозе биопленки осуществлялась биоаугментация культуры аммонийнокисляющих микроорганизмов (АОМ), на 16 сут – биоаугментация нитритокисляющих микроорганизмов (НОМ), на 24 сут – смешанной культуры АОМ и НОМ.

Описание лабораторной биофильтрационной установки

Лабораторная установка состояла из двух параллельно работающих биофильтров объемом 700 см³, заполненных керамзитом и оснащенных системой аэрации (рис. 1).

В каждом биофильтре были организованы две отдельные секции, заполненные керамзи-

том, пространственно разделенные зонами, свободными от загрузки, с целью усреднения концентрации веществ и ионов после контакта сточной воды с каждым слоем загрузки, облегчения продувки биофильтра воздухом в процессе аэрации, упрощения монтажа и демонтажа для отбора проб биопленки, а также обслуживания установки [13]. Доля загрузки в рабочем объеме биофильтров составляла около 70%. Порозность слоя загрузки, определяемая как доля свободного объема, заполняемого водой, в объеме загрузки, составляла в среднем 35%.

Модельный раствор сточных вод и воздух для аэрации подавались в нижнюю часть реактора. Очищенная вода из верхней части реактора отводилась в накопительную емкость для отбора проб или непосредственно в канализацию.

В пусковой период работы биофильтров производилась инокуляция биофильтров для формирования и накопления биопленки на поверхности загрузочного материала путем циркуляции надфильтровой жидкости в течение 3-х часов в биофильтрационной системе. В работе использовался активный ил городских очистных сооружений (ОАО «Водоканалсервис», г. Зеленодольск).

По завершении инокуляции биофильтры переводились в режим фильтрования модельного раствора сточных вод следующего состава (г/дм³): Na₂CO₃ – 0,04; (NH₄)₂SO₄ – 0,06; NH₄Cl – 0,03; KH₂PO₄ – 0,015; крахмал – 0,1; сахароза – 0,125;

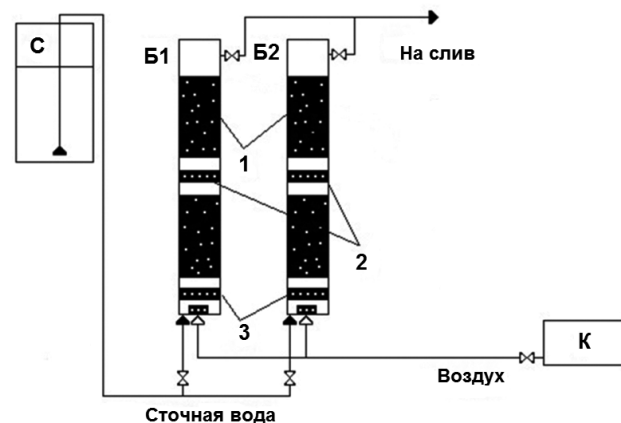


Рис. 1. Схема биофильтрационной установки с двумя секционными биофильтрами (Б1 и Б2): 1 – секции, заполненные фильтрующим материалом; 2 – полые секции; 3 – газораспределительные тарелки; С – емкость для модельного раствора сточной воды; К – компрессор для аэрации.

Fig. 1. Diagram of a biofiltration unit with two sectional biofilters (B1 and B2): 1 – sections filled with filter material; 2 – hollow sections; 3 – gas distribution plates; С – tank for wastewater model solution; К – compressor for aeration.

CH₃COONa – 0,05; глицерин – 10 мм³; вода водопроводная – 1 дм³ [13]. Температура воды, поступающей на очистку, составляла от 18 до 20 °С. В процессе биофильтрации время пребывания сточной воды в биофильтрах поддерживалось на уровне 6 часов.

Время завершения пускового периода эксплуатации биофильтра определялось следующими параметрами [1]:

- визуальным обнаружением биопленки на поверхности загрузочного материала;
- эффективным удалением органических веществ в процессе очистки;
- обнаружением в очищенной воде нитритов и нитратов как продуктов метаболизма медленно растущих нитрифицирующих бактерий.

По завершении пускового периода в один из биофильтров осуществляли биоаугментацию нитрифицирующих бактерий. В качестве последних использовали ранее выделенные из активного ила городских очистных сооружений (ОАО «Водоканалсервис») культуры аммонийокисляющих бактерий и нитритокисляющих бактерий р. *Nitrobacter* [14]. Второй биофильтр выступал в качестве контрольной системы.

Культуры нитрифицирующих бактерий хранили при температуре 4 °С на агаризованных средах Виноградского (1 фазы и 2 фазы для аммонийокисляющих и нитритокисляющих бактерий, соответственно). Для активации культур перед их биоаугментацией в микробиоценоз биопленки биофильтрационной системы, культуру переносили в питательную среду, представляющую собой модельный раствор вышеописанного состава без органических веществ, и культивировали на ротационном шейкере в течение 24 ч при температуре 24 °С и скорости перемешивания 120 об/мин, после чего биоаугментировали в опытный биофильтр. На 8 сут непрерывной биофильтрации опытный биофильтр инокулировали 250 мл суспензии аммонийокисляющих микроорганизмов (АОМ) путем ее циркуляции в течение 3 ч в биофильтрационной системе. Титр культуры АОМ составлял 3,2·10⁶ КОЕ/см³. Далее процесс биофильтрации МР СВ возобновлялся с периодическим отбором проб из опытного и контрольного биофильтров.

Аналогично, на 16 сут проводилась инокуляция опытного биофильтра нитритокисляющими микроорганизмами (НОМ) с титром культуры НОМ 4,1·10⁶ КОЕ/см³, на 24 сут непрерывной биофильтрации – смешанной суспензией АОМ и НОМ с титром культуры 4·10⁶ КОЕ/см³.

Отбор проб для оценки эффективности очистки сточных вод на основании изменения концентрации органических веществ и соединений азота осуществлялся раз в 2-3 сут. Количественное определение химического потребления кислорода (ХПК), ионов аммония, нитрит- и нитрат-ионов проводилось по стандартным методикам природоохранных нормативных документов федеративных (ПНД Ф): ПНД Ф 14.1:2.100-97, ПНД Ф 14.1:2.1-95, ПНД Ф 14.1:2.3-95, ПНД Ф 14.1:2.4-95.

Отбор проб биомассы для оценки состава микробиоценоза биофильтров осуществлялся путем смыва биопленок с поверхности загрузочного материала: в пробирки объемом 50 мл вносили 3–5 г керамзита с иммобилизованной на его поверхности биопленкой и 25 мл физиологического раствора и интенсивно встряхивали в течение 3 мин [14]. Дальнейшие экспериментальные исследования проводили с полученными микробными суспензиями.

Для подтверждения наличия нитрифицирующих микроорганизмов и оценки их количественного состава проводили идентификацию методом флуоресцентной *in situ* гибридизации [15,16]. Метод основан на гибридизации (связывании) специфических флуоресцентно окрашенных олигонуклеотидных зондов с комплементарными участками 16S или 23S рРНК объектов идентификации. В работе использован генный зонд Nso 1225 на аммонийокисляющие бактерии β-группы протеобактерий, а также специфический зонд Nit3 на нитритокисляющие бактерии *Nitrobacter spp.* (табл.1). Генные зонды произведены SMT GeräteHandelGmbH, Heidelberg.

Для определения общего количества микробных клеток в образцах биопленки использовалось окрашивание раствором 4',6'-диамидино-2-фенилиндол дигидрохлорида (DAPI). Микроскопирование образцов осуществлялось с помощью флуоресцентного микроскопа AxioImagerD2

Таблица 1

Характеристика использованных генных зондов

Characteristics of the used gene probes

Наименование зонда	Последовательность нуклеотидов 3' – 5'	Определяемые микроорганизмы
Nso 1225	CGCCATTGTATTAGGTGTGA	Все аммонийокисляющие β-протеобактерии р. <i>Nitrobacter</i>
Nit3	CCT GTG CTC CAT GCT CCG	

(CarlZeiss, Germany) с применением прикладного программного обеспечения AxioVision 3.1 (CarlZeissVisionGmbH, BildanalyseSysteme) для подсчета флуоресцирующих меток, обусловленных гибридизацией генных зондов (Cy3, красный) с клетками нитрифицирующих бактерий и связыванием красителя DAPI (синий) с ДНК всех клеток микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка эффективности биоаугментации нитрифицирующих микроорганизмов в микробиоценоз биофильтрационной системы

Мониторинг процесса очистки МР СВ от органических соединений на протяжении экспериментальных исследований осуществлялся на основании измерения показателя ХПК очищенной воды. Полученные результаты свидетельствуют об эффективном протекании процесса биологической очистки (рис.2).

После завершения пускового периода эффективность удаления органических веществ в обоих биофильтрах изменялась в диапазоне от 84 до 98% (рис. 2). Большая эффективность удаления органических веществ в контрольном биофильтре в сравнении с опытным, как в пусковой период, так и в процессе длительной биофильтрации, вероятно определяется различной относительной массой загрузочного материала в сравниваемых биофильтрах одинакового объема вследствие неидентичности формы, размера частиц керамзита и, соответственно, неодинаковым количеством

иммобилизованной биомассы гетеротрофных микроорганизмов. Выявленные незначительные колебания в степени очистки, в том числе резкое снижение эффективности очистки на 24 сут культивирования опытного биофильтра, могут быть связаны с периодическим сокращением времени пребывания сточной воды в системе вследствие естественного заиливания загрузочного материала в процессе длительной непрерывной эксплуатации биофильтрационной системы. При этом отмечено, что биоаугментация автотрофных нитрифицирующих бактерий в микробиоценоз биопленок не оказала влияние на деятельность гетеротрофных бактерий, обеспечивающих очистку сточных вод от органических соединений.

Согласно экспериментальным данным в пусковой период работы биофильтров эффективность удаления аммонийного азота составляла в среднем 50% в опытном и контрольном биофильтрах (рис. 3, табл. 2).

Эффективность окисления аммонийного азота после биоаугментации аммонийоокисляющих микроорганизмов в опытный биофильтр составляла в среднем 73%, что в 1,6 раз выше эффективности окисления в контрольном биофильтре (табл. 2). Концентрация нитритов в очищенной воде опытного биофильтра составляла в этот период в среднем 1,6 мг/дм³, в контрольном – 0,1 мг/дм³, что свидетельствует об эффективной биоаугментации аммонийоокисляющих микроорганизмов (рис. 3). В целом, эффективность протекания первой фазы нитрификации, достигаемая в опытном биофильтре на 4 сут от начала биоаугментации I фазы,

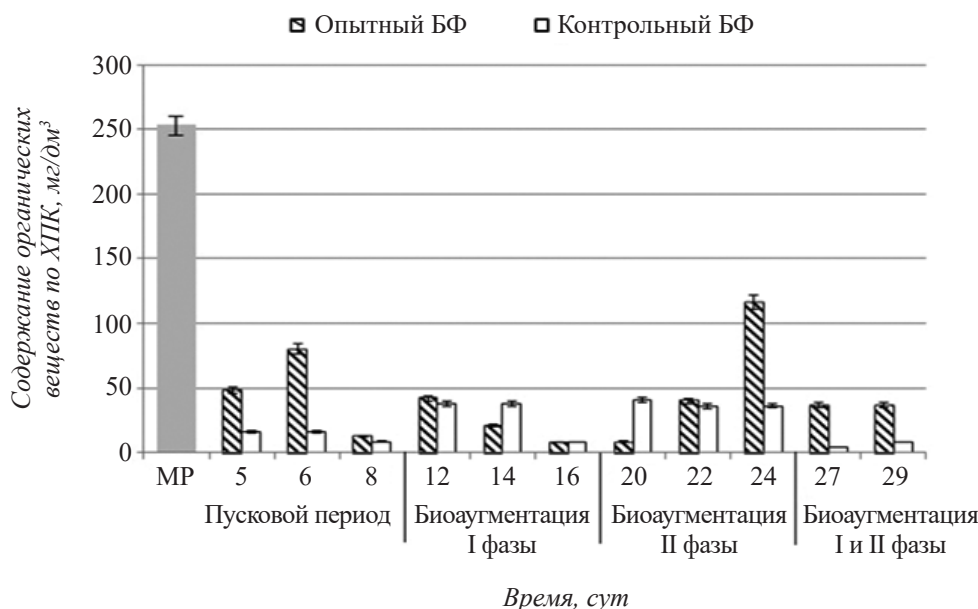


Рис. 2. Кинетика концентрации органических веществ (по ХПК) в процессе биофильтрации.

Fig. 2. Kinetics of the organic substances concentration (by COD) in the process of biofiltration.

БИОАУГМЕНТАЦИЯ НИТРИФИЦИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

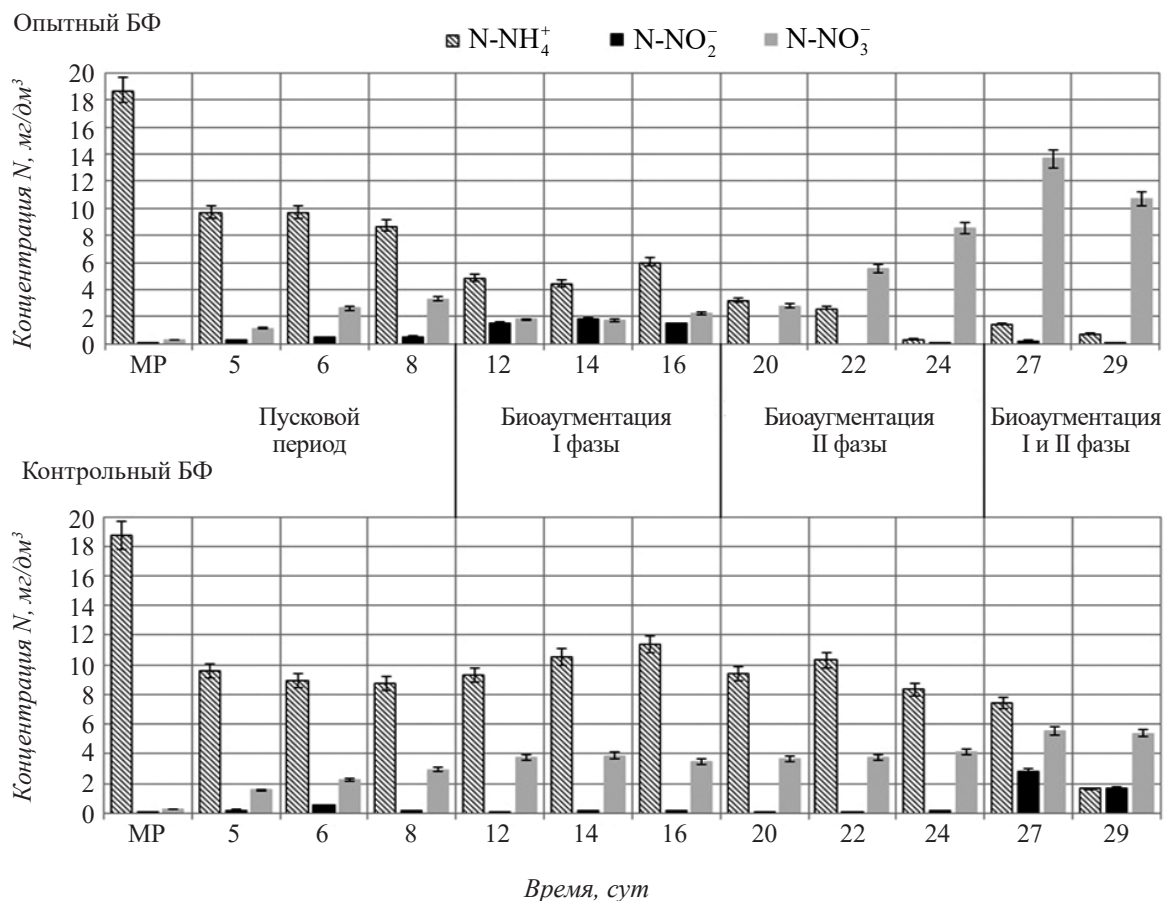


Рис. 3. Кинетика концентрации соединений азота в процессе биофильтрации.

Fig. 3. Kinetics of nitrogen compounds concentration in the process of biofiltration.

соответствует эффективности, достигаемой в контрольном биофильтре лишь через 16 сут непрерывной биофильтрации.

Дисбаланс количества нитрификаторов 1 и 2 фазы обуславливает наличие в очищенной воде опытного биофильтра в период с 12 по 16 сут биофильтрации нитрит-ионов (рис. 3) в концентрациях, значительно превышающих предельно допустимые концентрации для водоемов рыбохозяйственного назначения [17]. При этом согласно ряду исследований, первая стадия нитрификации чаще бывает лимитирующей из-за меньшей скорости воспроизведения АОБ, чем НОБ. Известно [2], что при одинаковой температуре среды скорость роста бактерий р. *Nitrobacter* примерно на 50% больше, чем р. *Nitrosomonas*. Поэтому избыточное удаление биомассы из системы, в первую очередь, отрицательно повлияет на стадию образования нитритов, а поскольку данная стадия является основной для образования нитратов, то нарушается весь процесс нитрификации. Таким образом, в связи с высокой токсичностью нитрит-ионов [17], с одной стороны, и физиологическими особенностями аммонийокисляющих

микроорганизмов, с другой стороны, процесс биоаугментации аммонийокисляющих бактерий как способ повышения эффективности нитрификации следует выбирать при условии очевидного угнетения аммонийокисляющего микробиоценоза биофильтрационной системы либо в комплексе с биоаугментацией нитритокисляющих бактерий.

После биоаугментации нитритокисляющих микроорганизмов в опытном биофильтре эффективность удаления аммонийного азота продолжала расти и составляла в среднем 88,8% или в 1,8 раз больше, чем в контрольном биофильтре (табл. 2), что обусловлено предыдущей эффективной биоаугментацией аммонийокисляющих бактерий. При этом в очищенной воде опытного биофильтра были обнаружены лишь следы нитритного азота, что свидетельствует об эффективном превращении нитрит-ионов в нитрат-ионы нитритокисляющими бактериями, которые были биоаугментированы в микробиоценоз. Так, количество азота нитратов – конечных продуктов нитрификации – в опытном биофильтре на 24 сут непрерывной биофильтрации в 2 раза превышало их количество в контрольном биофильтре и составляло 8,5 мг/дм³ (рис. 3).

Эффективность трансформации аммонийного азота в процессе биофильтрации
The efficiency of the ammonia nitrogen transformation in the process of biofiltration

Концентрация аммонийного азота		Эффективность трансформации, %		Время отбора пробы, сут	
Поступающая вода, мг/дм ³	Очищенная вода, мг/дм ³		Опытный БФ		Контрольный БФ
	Опытный БФ	Контрольный БФ			
Пусковой период					
18,7	9,71	9,56	48,1	48,9	5
	9,73	8,92	48,0	52,3	6
	8,76	8,75	53,2	53,2	8
	Среднее значение		49,7	51,4	-
Биоаугментация I фазы					
18,7	4,86	9,32	74,0	50,2	12
	4,46	10,54	76,2	43,6	14
	6,08	11,35	67,5	39,3	16
	Среднее значение		72,6	44,4	-
Биоаугментация II фазы					
18,7	3,25	9,41	82,6	49,7	20
	2,65	10,32	85,8	44,8	22
	0,41	8,32	97,8	55,5	24
	Среднее значение		88,8	50	-
Биоаугментация I и II фазы					
18,7	1,48	7,42	92,1	60,3	27
	0,75	1,64	96	91,2	29
	1,12	4,53	94	75,8	-

Эффективность удаления аммонийного азота после биоаугментации нитрифицирующих микроорганизмов I и II фазы в опытном биофилт্রে составляла в среднем 94 % против 76 % в контрольном биофилт্রে (табл. 2). Оценить роль биоаугментированных АОМ в данном случае не представлялось возможным, поскольку уже на 24 сут непрерывной биофильтрации эффективность удаления аммония составляла 97%. Увеличение концентрации нитратов, образовавшихся на 29 сут непрерывной биофильтрации в опытном биофилт্রে до 10,7 мг/дм³, свидетельствует об увеличении активности нитритокисляющих бактерий (рис.3).

Таким образом, интродукция аммонийокисляющих микроорганизмов в микробиоценоз биофильтрационной системы приводит к повышению эффективности удаления аммонийного азота в 1,6 раз по сравнению с контролем уже на 4 сут после биоаугментации. В последующие 8 сут эффективность 1-й стадии нитрификации в опытном биофилт্রে увеличивается на 16%, в то время как в контрольном биофилт্রে лишь на 6%.

Количественная оценка накопления нитратов в очищенной воде после интродукции нитритокисляющих бактерий в микробиоценоз опытнoго биофилтра свидетельствует о повышении эффективности процесса нитрит-окисления (2-й стадии нитрификации) в среднем в 2 раза по сравнению с контролем. Однако в данном случае следует учитывать и роль аммонийокисляющих бактерий в общем процессе окисления нитритов до нитратов, поскольку эти две группы бактерий связаны метабиотическими отношениями: большее количество аммонийокисляющих бактерий обуславливает появление большего количества нитритов, являющихся субстратом для нитритокисляющих бактерий.

В целом, наблюдаемый дисбаланс по удаляемому аммонийному азоту и накопленному азоту нитритов и нитратов, вероятно, связан с биотрансформацией конечных продуктов нитрификации – нитратов в газообразные продукты в результате протекания процессов денитрификации или анаэробного окисления аммония (Anpatox-процесс) в объеме развитой биопленки [13, 18].

В ходе проведенных экспериментальных исследований выявлено, что биоаугментация нитрифицирующих бактерий в микробиоценоз биопленки приводит к интенсификации процесса нитрификации. При этом в сравнении с результатами исследования биоаугментации других авторов принципиальным преимуществом данного исследования является успешная биоаугментация нитрифицирующих бактерий в микробиоценоз биопленки биофильтрационной системы в виде микробной суспензии, а не предварительно иммобилизованной на носителях биомассы, на формирование которой требуется дополнительное время [18]. Кроме того, полученные результаты демонстрируют эффективность однократной биоаугментации в процессе длительной биофильтрации уже после формирования микробиоценоза биофильтрационной системы, а не в пусковой период ее работы [19], что позволяет рассматривать данную технологию как способ повышения нитрификаци-

онной активности системы в случае непредвиденной гибели или подавления нитрифицирующих бактерий ранее сформированной биосистемы.

Результаты идентификации нитрифицирующих бактерий в составе микробиоценоза биофильтрационной системы

Результаты идентификации нитрифицирующих бактерий в составе биопленки, сформировавшейся в течение 8 сут пускового периода работы биофильтра, свидетельствуют о наличие большего количества нитрификаторов в нижних секциях биофильтров, что, вероятно, определено большим количеством биомассы в этих секциях в связи со схемой подачи инокулята снизу вверх (рис. 4). В нитрифицирующем микробиоценозе обоих биофильтров отмечено преимущественное развитие аммонийокисляющих микроорганизмов в сравнении с нитритокисляющими бактериями. Культура нитритокисляющих бактерий, используемая для

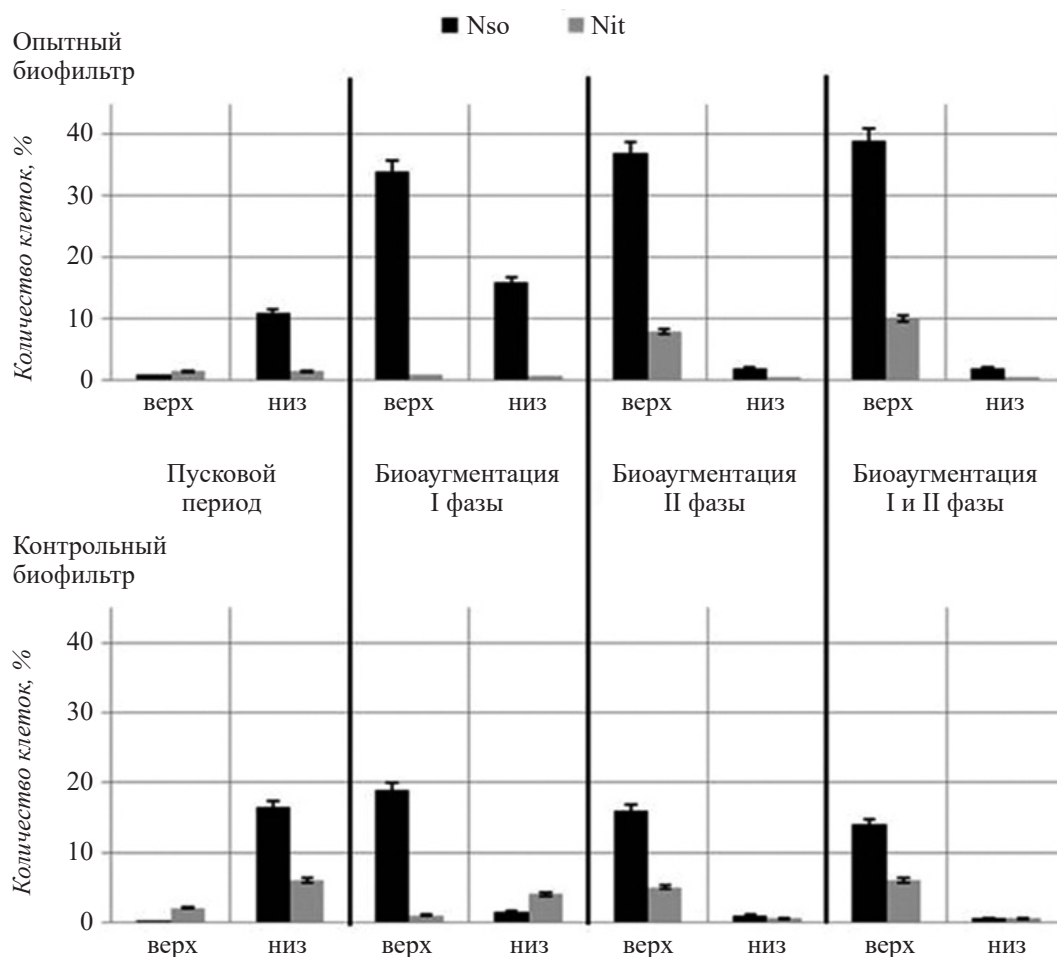


Рис. 4. Соотношение количества клеток нитрификаторов к общему числу бактерий микробиоценоза биопленки в процессе биофильтрации.

Fig. 4. The ratio of the nitrification cells number to the total number of bacteria of the biofilm microbiocenosis in the process of biofiltration.

биоаугментации, состояла, главным образом, из бактерий *p. Nitrobacter* [14], однако следует учитывать, что нитритоксилирующий микробиоценоз представлен не только бактериями *p. Nitrobacter*, для идентификации которых использовался генный зонд Nit3, но и другими НОБ, не идентифицируемыми в данной работе.

Согласно полученным результатам, по мере адаптации микробиоценоза биопленки к составу сточных вод и режиму биофильтрации происходит смещение зоны развития нитрификаторов в верхние секции биофильтров, что определено пространственной сукцессией гетеротрофных и автотрофных микроорганизмов [13]. Так, на 16 сут непрерывной биофильтрации в контрольном биофильтре количество аммонийоксилирующих бактерий в верхней секции возросло до 19% от общего числа клеток, в нижней секции сократилось до 1,5% и на протяжении последующих суток практически не изменялось.

При этом в результате биоаугментации аммонийоксилирующих микроорганизмов в биопленку опытного биофильтра, количество АОМ в верхней секции возросло в 1,8 раз по сравнению с контрольным биофильтром и в последующие сутки незначительно увеличивалось на протяжении 30 сут непрерывной биофильтрации, что свидетельствует об эффективности технологии биоаугментации нитрификаторов 1 фазы в микробиоценозе биофильтрационной системы.

Согласно полученным результатам, биоаугментация нитритоксилирующих бактерий привела к незначительному увеличению количества бактерий *p. Nitrobacter* в составе микробиоценоза опытного биофильтра на 24 сут биофильтрации по сравнению с контрольным биофильтром. Последующая биоаугментация нитрифицирующих бактерий обеих фаз привела к дальнейшему незначительному увеличению количества нитритоксилирующих бактерий, коррелирующим с возрастанием их количества в контрольном биофильтре.

В целом, качественная и количественная идентификация микроорганизмов методом флуоресцентной *in situ* гибридизации выявила увеличение количества нитрифицирующих микроорганизмов в составе биопленки опытного биофильтра, что свидетельствует об эффективности интродукции микроорганизмов и коррелирует с результатами биотрансформации соединений азота.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сироткин А.С., Кирилина Т.В., Семенова Е.Н., Халилова А.А. Биофильтрация сточных вод. Учебное пособие. Казань: Изд-во КНИТУ, 2014, 172 с.
2. Жмур Н.С. Технологические и биохимические процессы очистки сточных вод на сооружениях с аэротенками. М.: Акварос, 2003, 512 с.
3. Michalska J., Mroziak A. Zastosowanie bioaugmentacji w procesach biologicznego oczyszczania ścieków i utylizacji osadów. *Ochrona Środowiska*, 2018, 40(1), 35-44.
4. Herreroab M., Stuckeya D.C. Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: A review. *Chemosphere*, 2015, 140, 119-28. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.10.033
5. Raper E., Stephenson. T., Anderson D.R., et al. Industrial wastewater treatment through bioaugmentation. *Process safety and environmental protection*. 2018, 118, 178-187. doi: 10.1016/j.psep.2018.06.035
6. Yang X.L., Liu L.H., Wang S.B. A strategy of high-efficient nitrogen removal by an ammonia-oxidizing bacterium consortium. *Web of Science Research*, 2019, 275, 216-224. doi: 10.1016/j.biortech.2018.12.057
7. Liu W.R., Yang D.H., Shen Y.L., Wang J.F. Two-stage partial nitrification-anammox process for high-rate mainstream deammonification. *Applied microbiology and biotechnology*. 2018, 102(18), 8079-8091. doi: 10.1007/s00253-018-9207-y
8. Yuan J.J., Dong W.Y., Sun F.Y., Zhao K. Low temperature effects on nitrification and nitrifier community structure in V-ASP for decentralized wastewater treatment and its improvement by bio-augmentation. *Environmental science and pollution research*. 2018, 25(7), 6584-6595. doi: 10.1007/s11356-017-0927-9
9. Liu F., Hu X.M., Zhao X., et al. Rapid nitrification process upgrade coupled with succession of the microbial community in a full-scale municipal wastewater treatment plant (WWTP). *Bioresour. Technol.* 2018, 249, 1062-1065. doi: 10.1016/j.biortech.2017.10.076
10. Krhutkova O., Novák L., Pachmanová L., et al. In situ bioaugmentation of nitrification in the regeneration zone: practical application and experiences at full-scale plants. *Water science and technology*. 2006, 53(12), 39-46. doi: 10.2166/wst.2006.404
11. Stenström F., la Cour Jansen J. Impact on nitrifiers of full-scale bioaugmentation. *Water science and technology*. 2017, 76(11), 3079-3085. doi: 10.2166/wst.2017.480
12. Николаев Ю.А., Грачев В.А., Михайлова Ю.В. Использование технологии биоаугментации для улучшения качества очистки сточных вод. *Водоочистка*. 2015, 5-6, 13-22
13. Кирилина Т.В. Биоконверсия соединений азота и фосфора в процессе биофильтрации сточных вод и их доочистки погруженными макрофитами: дис. канд. техн. наук. Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, 2011
14. Кирилина Т.В., Рахманкулова З.Ш., Сироткин А.С. Оценка способности нитрифицирующих микроорганизмов к образованию биопленок. *Вестник технологического университета*. 2016, 19(16), 152-154

15. Nielsen P.H., Daims H., Lemmer H. FISH Handbook for Biological Wastewater Treatment. Identification and quantification of microorganisms in activated sludge and biofilms by FISH. London: IWA Publishing, 2009, 123 p.
16. Bouchez T., Patureau D., Dabert P., et al. Successful and unsuccessful bioaugmentation experiments monitored by fluorescent *in situ* hybridization. *Water science and technology*, 2000, 41(12), 61-68. doi 10.2166/wst.2000.0240
17. Приказ Минсельхоза России от 13 декабря 2016 г. № 552 «Об утверждении нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения (с изменениями на 12 октября 2018 года)» (Зарегистрировано в Минюсте РФ 13.01.2017 N 45203)
18. Manju N.J., Deepesh V., Achuthan Cini, et al. Immobilization of nitrifying bacterial consortia on wood particles for bioaugmenting nitrification in shrimp culture systems. *Aquaculture*. 2009, 294, 65-75. doi: 10.1016/j.aquaculture.2009.05.008
19. Ji Xiang Yang, Bin Zhao, Qiang An, et al. Bioaugmentation with *A. faecalis* strain NR for achieving simultaneous nitrogen and organic carbon removal in a biofilm reactor. *Bioresource Technology*. 2018, 247, 871–880. doi: 10.1016/j.biortech.2017.09.189

Bio-Augmentation of Nitrifying Microorganisms to Increase the Efficiency of Oxidation of Nitrogen Compounds during Wastewater Biofiltration

T. V. VDOVINA^{1,*}, A. S. SIROTKIN¹, J. V. KOBELVA¹, and E. S. GORSHKOVA¹

¹Kazan National Research Technological University, Kazan, 420015 Russia

*e-mail: tvkirilina@gmail.com

Received October 25, 2019

Revised February 3, 2020

Accepted March 6, 2020

Abstract—The efficiency of nitrifying bacteria bio-augmentation into biofilm microbiocenosis during 30-day continuous biofiltration of municipal wastewater model solution has been assessed. The laboratory setup consisted of two parallel operating biofilters, in one of which, after start-up period, cultures of ammonium-oxidizing and nitrite-oxidizing bacteria of the *Nitrobacter* genus were sequentially introduced. It was established that the bio-augmentation of ammonium-oxidizing bacteria into the biofilm microbiocenosis led to an increase in the efficiency of ammonium nitrogen removal by an average of 1.6 times compared to the control biofilter. The subsequent bio-augmentation of nitrite-oxidizing bacteria caused an increase in the amount of nitrates in purified water by 2 times on average. As a result of bio-augmentation of nitrifying bacteria into the biofilm microbiocenosis, the nitrification process was intensified. Quantitative and qualitative identification of microorganisms via fluorescence *in situ* hybridization showed an increase in the number of nitrifying microorganisms in the biofilm of experimental biofilter, which confirms the efficiency of introduction of microorganisms and correlates with the data on biotransformation of nitrogen compounds.

Key words: nitrifying microorganisms, wastewater biofiltration, biofilms, bio-augmentation, fluorescence *in situ* hybridization.

doi: 10.21519/0234-2758-2020-36-2-99-107